

PARÂMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS DO INTESTINO DELGADO DE LEITÕES LACTENTES COM DIETAS CONTENDO ÓLEOS FUNCIONAIS

Mateus Vinício da Silva Guerreiro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Cheila Roberta Lehnem (Coorientador), Fernanda Losi Alves de Almeida (Orientador), e-mail: ra113348@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Morfologia

Palavras-chave: aditivos fitogênicos, intestino delgado, desmame suíno.

Resumo:

Esse estudo teve como objetivo avaliar os parâmetros histomorfométricos das três porções do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) de leitões lactentes alimentados com dietas contendo óleos funcionais (FO). Foram utilizadas 40 porcas em um período experimental de 28 dias (6 dias pré-parto e 21 dias de lactação). Após o parto, os leitões foram distribuídos nos grupos experimentais: NC: controle negativo, dieta comercial sem antibióticos para leitões e porcas; FOPig: dieta com FO para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas com FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibióticos (Sulfametoxazol e Trimetropim) para leitões. Ao final do experimento, amostras das três porções do intestino delgado foram coletadas e processadas para inclusão em parafina. Cortes histológicos, corados com PAS, foram utilizados para contagem de células caliciformes e linfócitos intraepiteliais (LIEs). O tratamento com antibióticos aumentou a produção de muco neutro pelas células caliciformes no duodeno, sem afetar a população de LIEs. No jejuno e íleo, a população de células caliciformes e de LIEs manteve-se constante independente do tratamento avaliado.

Introdução

Nos leitões, o período de desmame compreende uma fase crítica do desenvolvimento do trato gastrointestinal e pode resultar em reação inflamatória que compromete a arquitetura do intestino delgado. Devido a esses problemas, antibióticos promotores de crescimento (AGP) têm sido amplamente utilizados em dietas para suínos, especialmente em dietas pós-desmame (OMONIJO et al., 2018). No entanto, o uso indiscriminado desses antibióticos tem causado resistência bacteriana e preocupação com a segurança alimentar humana (XU et al., 2018). Uma alternativa para manter o desempenho dos leitões, sem o uso de antibióticos, é a utilização de óleos funcionais (FO) na ração, devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (ZENG et al., 2015). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de dietas contendo FO de mamona e casca de caju sobre a produção de muco pelas células caliciformes e número de

linfócitos intraepiteliais no epitélio do intestino delgado de leitões durante o aleitamento.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas 40 porcas de diferentes ordens de parto (variação de 1 a 7). O período experimental foi de 28 dias (6 dias pré-parto e 21 dias de lactação). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com cinco grupos, especificados como NC (controle negativo): dieta sem antibiótico para leitões e porcas; FO_{Pig}: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FO_{Sow}: dieta com FO para porcas; FO_{All}: dietas com FO para porcas e leitões; ANT_{PIG}: dieta com antibióticos (Sulfametoxadol e Trimetropim, 15 mg/kg) para leitões. Cada grupo experimental teve dois blocos e um total de oito repetições, sendo considerada uma repetição a porca e sua leitegada. As porcas receberam dietas isonutritivas formuladas segundo as exigências nutricionais do NRC (*National Research Council, Nutrient Requirements of Swine, 2012*) e foram alimentadas *ad libitum*. A quantidade de FO adicionada à ração foi de 1,5kg de óleos funcionais/tonelada de ração. A partir dos dez dias de vida, os leitões receberam as dietas experimentais. Ao fim do experimento, 12 leitões (selecionados aleatoriamente dos tratamentos e do grupo controle) foram anestesiados, via intramuscular, com 40mg/kg de ketamina associada a 20mg/kg de xilazina e, após atingimento de anestesia profunda, foram eutanasiados com aplicação de 10 mL de cloreto de potássio a 20% por via intravenosa.

Foi removido de cada leitão o trato gastrointestinal e coletado um segmento de cada uma das três porções do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo). As amostras foram fixadas em solução de formaldeído tamponado a 10% e, em seguida, embebidas em álcool 70% e processadas para inclusão em parafina. Cortes histológicos longitudinais (5 µm) foram obtidos em micrótomo e corados com PAS (ácido periódico reativo-Schiff) para contagem de células caliciformes secretoras de muco neutro. Nos mesmos cortes, foram analisados os linfócitos intraepiteliais. Imagens dos cortes histológicos foram obtidas em microscópio óptico (Nikon Eclipse®, Shimjuku, Japão) acoplado a uma câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c, Shimjuku, Japão), por meio do software NIS-Elements (versão 4.0, Praga, República Tcheca), utilizando a objetiva de 40X. A contagem de células caliciformes e LIEs foi realizada em 24 imagens de cada animal e os resultados foram expressos como número de células por mm², utilizando o programa Image Pro Plus 4.0.

Resultados e Discussão

A análise dos cortes histológicos de jejuno e íleo corados em PAS mostrou que não houve variação no número de células caliciformes, produtoras de muco neutro, entre os tratamentos. No entanto, no duodeno houve um aumento no número de células caliciformes PAS-positivas no tratamento ANT_{PIG} em relação ao grupo controle NC (Tabela 1). Corroborando com os nossos resultados, Thymann et al (2007) observaram que o tratamento de leitões desmamados com antibióticos altera a microbiota intestinal e aumenta a densidade de células caliciformes.

Conseqüentemente, o aumento na produção do muco atua como um biofilme protetor contra a entrada de patógenos, maximizando os mecanismos de defesa (MULAK; BONAZ, 2004).

Tabela 1: Número de células caliciformes por mm² no epitélio das vilosidades do duodeno, jejuno e íleo de leitões lactentes alimentados com dietas contendo óleos funcionais (OF). NC: controle negativo, dieta comercial sem antibióticos para leitões e porcas; FOPig: dieta com FO para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas com FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibióticos para leitões.

Tratamento	Duodeno	Jejuno	Íleo
NC	423,1 ± 22,2	499,3 ± 62,9	813,2 ± 62,0
FOPig	584,3 ± 9,5	480,4 ± 68,5	864,3 ± 121,7
FOSow	539,9 ± 5,2	512,0 ± 52,6	732,8 ± 92,7
FOAll	496,9 ± 104,2	506,5 ± 65,4	868,2 ± 37,2
ANTPIG	632,0 ± 14,2*	488,7 ± 39,3	779,3 ± 40,1

Dados apresentados como média ± erro padrão da média, submetidos à análise de variância *one-way* ANOVA seguido de pós-teste de Tukey a 5% de significância. * P<0,05 em comparação ao T0.

Considerando o sistema imune na mucosa intestinal, os linfócitos intraepiteliais, localizados entre os enterócitos, correspondem a uma população de células T que é estimulada por células apresentadoras de antígenos a produzirem anticorpos e citocinas imunomoduladoras (PENG et al., 2021). No nosso modelo de estudo, não houve diferença no número de LIEs entre os tratamentos nos três segmentos intestinais (Tabela 2), sugerindo que não houve ativação do sistema imune intestinal por essa via.

Tabela 2: Número de linfócitos intraepiteliais por mm² no epitélio das vilosidades do duodeno, jejuno e íleo de leitões lactentes alimentados com dietas contendo óleos funcionais (OF). NC: controle negativo, dieta comercial sem antibióticos para leitões e porcas; FOPig: dieta com FO para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas com FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibióticos para leitões.

Tratamento	Duodeno	Jejuno	Íleo
NC	238,2 ± 36,7	187,5 ± 14,7	132,8 ± 24,2
FOPig	349,9 ± 18,1	183,0 ± 29,7	191,5 ± 35,1
FOSow	256,0 ± 10,8	116,6 ± 12,9	172,4 ± 22,2
FOAll	217,3 ± 22,8	172,7 ± 8,9	213,7 ± 37,5
ANTPIG	244,6 ± 64,9	147,6 ± 30,1	184,2 ± 9,9

Dados apresentados como média ± erro padrão da média, submetidos à análise de variância *one-way* ANOVA seguido de pós-teste de Tukey a 5% de significância. * P<0,05 em comparação ao T0.

Conclusões

Nossos resultados sugerem que o tratamento com antibiótico aumentou a produção de muco neutro pelas células caliciformes no duodeno, sem afetar a população de linfócitos intraepiteliais. No jejuno e íleo, a população de células caliciformes e de LIEs manteve-se constante independente do tratamento avaliado.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá e ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pela bolsa concedida.

Referências

OMONIJIO, F. A. et al. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 126–136, 2018.

PENG, Jie; TANG, Yimei; HUANG, Yanhua. Gut health: The results of microbial and mucosal immune interactions in pigs. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 2, p. 282-294, 2021.

THYMANN, Thomas et al. Antimicrobial treatment reduces intestinal microflora and improves protein digestive capacity without changes in villous structure in weanling pigs. **British journal of nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1128-1137, 2007.

XU, Y. T. et al. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 110–119, 2018.

ZENG, Z. et al. Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 3, p. 279–285, 2015.